



FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Desmin
Clone D33
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS606

ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, Clone D33, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody labels smooth and striated muscle cells as well as mesothelial cells, and is useful for the identification of rhabdomyosarcomas (1, 2), leiomyomas, (3, 4) and mesotheliomas (5). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.
Summary and explanation	Desmin belongs to the class III of intermediate filaments, constituting part of the cytoskeleton, and is the characteristic intermediate filament of all three types of muscle cells (skeletal, cardiac and smooth muscle). Desmin is a 53-kDa protein encoded by nine exons of a gene located at 2q35. Desmin forms a cytoskeletal network across the muscle fibre bordering at the plasma and nuclear membrane and is particularly localized to the subplasmalemmal region and the Z-band (6). Refer to Dako's <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.
Reagent provided	Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide. <u>Clone</u> : D33. <u>Isotype</u> : IgG1, kappa.
Immunogen	Desmin purified from human muscle.
Specificity	In Western blotting of cytoskeletal preparations of MCF-7 cells, SCC-4 cells RT-112 cells, skin epidermis, primary culture of renal carcinoma cells, leiomyoma, fetal heart, and crude extract from human white matter of brain, the antibody labels only a ~53 kDa band in the leiomyoma and fetal heart preparations, proving the reactivity with desmin, and demonstrating the absence of reactivity with other types of intermediate filaments tested (7). As demonstrated by immunohistochemistry on formalin-fixed, paraffin embedded tissue sections, the antibody cross-reacts with the desmin-equivalent protein in mouse and rat.
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. 3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. 4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.
Specimen preparation including materials required but not supplied	The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm. Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). <u>Paraffin-embedded sections</u> : Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium. <u>Deparaffinized sections</u> : Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.
Staining procedure including materials required but not supplied	The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols: Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume) Autoprogram: Desmin (without counterstaining) or DesminH (with counterstaining) The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times. All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics". Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-
(115224-002)	IS606/EFG/MNI/2009.12.04 p. 1/4

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17



aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include colon and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation
Cells labeled by the antibody display cytoplasmic staining. The staining may show a fibrillar aspect (7).

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels vascular smooth muscle cells and esophageal smooth muscle cells (3). In 8/10 fixed tissues, the antibody labeled mesothelial cells (5). Except for cells of muscle origin, normal bone marrow, kidney, breast, prostate gland, brain (gray matter), jejunum, thyroid gland, lung, colon, stomach, ureter and tonsil are negative (1). The smooth muscle cells in the tunica muscularis in colon show a moderate to strong staining reaction, whereas smooth muscle cells in the small vessels in the lamina propria show a weak to moderate staining intensity.

Abnormal tissues: Of human rhabdomyosarcomas, the antibody labeled 4/4 tumors (1). In the human esophagus the antibody labeled 35/35 leiomyomas, 1/3 leiomyosarcomas and 3/17 stromal tumors (3). In addition, the antibody labeled 33/33 highly cellular leiomyomas of the uterus (4). Also, 8/16 malignant, diffuse mesotheliomas of the pleura, were labeled by the antibody (5). In human vaginal and endocervical polyps, the antibody labeled both background stromal cells and the atypical stromal cells within the subepithelial zone (8). The antibody showed no labeling in 10 cases each of neuroblastoma, lymphoma, Wilms' tumor, primitive neuroectodermal tumor, and retinoblastoma (2), nor did it label 4 cases of small-cell carcinoma of lung, 3 cases of Ewing's sarcoma (1), and 6 cases of endometrial stromal nodules (4).

FRANÇAIS	
Utilisation prévue	Pour utilisation diagnostique <i>in vitro</i> . FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, clone D33, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps marque les cellules du muscle lisse et strié ainsi que les cellules mésothéliales et facilite l'identification des rhabdomyosarcomes (1, 2), des léiomyomes (3, 4) et des mésothéliomes (5). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.
Résumé et explication	La desmine appartient à la classe III des filaments intermédiaires, qui constituent le cytosquelette, et c'est le filament intermédiaire caractéristique de trois types de cellules musculaires (muscle squelettique, cardiaque et lisse). La desmine est une protéine de 53 kDa codée par neuf exons d'un gène situé sur le chromosome 2q35. La desmine forme un réseau cytosquelettique dans les fibres musculaires bordant la membrane plasmatique et nucléaire et se situe plus particulièrement dans la région subplasmalemmale et la bande Z (6). Se référer aux <i>Instructions générales de coloration immunohistochimique</i> de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.
Réactifs fournis	Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium. <u>Clone</u> : D33. <u>Isotype</u> : IgG ₁ , kappa.
Immunogène	Desmine purifiée issue de muscle humain
Spécificité	Dans les analyses par Western Blot de préparations cytosquelettiques de cellules MCF-7, SCC-4 et RT-112, ainsi que d'épiderme cutané, de cultures primaires de cellules de carcinome rénal, de léiomyome, de cœur de fœtus et d'extrait brut de matière blanche de cerveau humain, l'anticorps marque uniquement une bande d'environ 53 kDa dans le léiomyome et les préparations de cœur de fœtus, ce qui prouve la réactivité à la desmine et démontre l'absence de réactivité aux autres types de filaments intermédiaires testés (7). Comme le démontre l'analyse immunohistochimique de tissus fixés au formol et inclus en paraffine, l'anticorps présente une réaction croisée à la protéine homologue de la desmine chez la souris et le rat.
Précautions	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées. 4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau. 5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.
Conservation	Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.
Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni	L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm. Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). <u>Coupes incluses en paraffine</u> : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent. <u>Coupes déparaffinées</u> : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).
Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni	Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et d'incubation sont préprogrammées dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants : Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL) Autoprogram : Desmin (sans contre-coloration) ou DesminH (avec contre-coloration). L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, IS606/EFG/MNI/2009.12.04 p. 2/4
(115224-002)	
Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark Tel. +45 44 85 95 00 Fax +45 44 85 95 95 CVR No. 33 21 13 17	

l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la re-programmation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu positif doit comprendre le côlon et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS750).

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique. La coloration peut présenter un aspect fibrillaire (7).

Tissus sains : L'anticorps marque les cellules du muscle lisse vasculaire et œsophagien (3). Dans 8 tissus fixés sur 10, l'anticorps marque les cellules mésothéliales (5). À l'exception des cellules d'origine musculaire, les tissus sains de la moelle osseuse, du rein, du sein, de la prostate, du cerveau (matière grise), du jejunum, de la glande thyroïde, du poumon, du côlon, de l'estomac, de l'urètre et de l'amygdale sont négatifs (1). Les cellules du muscle lisse de la tunica muscularis du côlon présentent une coloration modérée à forte, tandis que l'intensité de coloration des cellules du muscle lisse qui tapissent la lamina propria est faible à modérée.

Tissus tumoraux : Dans les cas de rhabdomyosarcome humain, l'anticorps a marqué 4 tumeurs sur 4 (1). Dans l'œsophage humain, l'anticorps a marqué 35 léiomyomes sur 35, 1 léiomyosarcomes sur 3 et 3 tumeurs stromales sur 17 (3). Par ailleurs, l'anticorps a marqué 33 léiomyomes de l'utérus à forte activité cellulaire sur 33 (4). De même, 8 mésothéliomes malins diffus de la plèvre ont été marqués par l'anticorps (5). Dans des polypes vaginaux et endocervicaux, une coloration de fond des cellules stromales et des cellules stromales atypiques a été obtenue avec l'anticorps dans la zone sous épithéliale (8). L'anticorps n'a marqué aucun cas parmi les 10 cas de neuroblastome, de lymphome, de tumeur de Wilms, de tumeur neuro-ectodermique primitive et de rétinoblastome (2), ni aucun cas parmi les 4 cas de carcinome du poumon à petites cellules, les 3 cas de sarcome d'Ewing (1) et les 6 cas de nodules stromaux de l'endomètre (4).

DEUTSCH	
Zweckbestimmung	Zur In-vitro-Diagnostik. FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, Clone D33, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper markiert glatte und gestreifte Muskelzellen und Mesothelzellen, und eignet sich zur Erkennung von Rhabdomyosarkomen (1, 2), Leiomyomen (3, 4) und Mesotheliomen (5). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.
Zusammenfassung und Erklärung	Desmin gehört zur Klasse III der Intermediärfilamente, die einen Teil des Zytoskeletts bilden, und ist das typische Intermediärfilament aller drei Muskelzellarten (Skelettmuskulatur, Herzmuskel und glatte Muskulatur). Desmin ist ein 53 kDa schweres Protein, das von neun Exonen eines Gens mit der Lokalisierung an 2q35 kodiert wird. Desmin bildet ein Zellgerüst-Netzwerk quer über die Muskelfaser an der Grenze zu Plasma und Kernmembran und ist hauptsächlich an der subplasmalemmalen Region und am Z-Band lokalisiert (6). Folgende Angaben bitte den <i>Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung</i> von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.
Geliefertes Reagenz	Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält. <u>Klon</u> : D33. <u>Isootyp</u> : IgG1, Kappa.
Immunogen	Gereinigtes Desmin aus menschlichem Muskelgewebe.
Spezifität	Im Western-Blotting von Zellgerüstpräparaten aus MCF-7-Zellen, SCC-4-Zellen, RT-112-Zellen, Epidermis, Primärkultur der Nierenkarzinomzellen, Leiomyom, fötalem Herz sowie Rohextrakt aus menschlicher weißer Hirnsubstanz markierte der Antikörper ausschließlich die ~53-kD-Bande der Leiomyom- und der fötalen Herzpräparate, was die Reaktivität mit Desmin und das Fehlen einer Reaktivität mit anderen Typen untersuchter Intermediärfilamente bestätigt (7). Durch immunhistochemische Untersuchungen an formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten wurde eine Kreuzreaktivität dieses Antikörpers mit dem desminäquivalenten Protein von Maus oder Ratte nachgewiesen.
Vorsichtsmaßnahmen	1. Nur für Fachpersonal bestimmt. 2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN ₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuftten Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen. 3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden. 4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden. 5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.
Lagerung	Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.
Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien	Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden. Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden. <u>Paraffineingebettete Schnitte</u> : Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien	Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX+, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert: Matrixprotokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen) Autoprogram: Desmin (ohne Gegenfärbung) oder DesminH (mit Gegenfärbung) Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz“-Schritt auf „Pufferspülgang“ eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz“-Schritt auf „Keine“ einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten. Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen. Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale“ beschriebenen Färbemuster identisch ist. Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel. Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe muss Dickdarmzellen enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).
Auswertung der Färbung	Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches Färbemuster auf. Die Färbung kann ein fibrilläres Aussehen annehmen (7).
Leistungsmerkmale	<u>Gesundes Gewebe</u> : Der Antikörper markiert vaskuläre glatte Muskelzellen und glatte Muskelzellen der Speiseröhre (3). Bei 8 von 10 Tests an fixierten Geweben markierte der Antikörper Mesothelzellen (5). Mit Ausnahme von Zellen muskulärer Herkunft testen gesundes Knochenmark, Niere, Brust, Prostata, Gehirn (graue Substanz), Jejunum, Schilddrüse, Lunge, Dickdarm, Magen, Ureter und Mandelgewebe negativ (1). Die glatten Muskelzellen der Tunica muscularis im Darm zeigen eine mäßige bis starke Färbereaktion, die glatten Muskelzellen in den kleinen Gefäßen der Lamina propria dagegen nur eine schwache bis mäßige Farbeintensität. <u>Pathologisches Gewebe</u> : Von den Rhabdomyosarkomen des Menschen markierte der Antikörper 4 von 4 Tumoren (1). Bei der menschlichen Speiseröhre markierte der Antikörper 35 von 35 Leiomyomen, 1 von 3 Leiomyosarkomen und 3 von 17 Stromatumoren (3). Zudem markierte der Antikörper 33 von 33 hoch zellulären Leiomyomen der Gebärmutter (4). Außerdem wurden vom Antikörper 8 von 16 malignen diffusen Mesotheliomen der Pleura markiert (5). Bei vaginalen und endozervikalen, menschlichen Polypen markierte der Antikörper innerhalb der subepithelialen Zone sowohl Hintergrund-Stromazellen als auch atypische Stromazellen (8). In jeweils 10 Fällen erbrachte der Antikörper keine Markierung eines Neuroblastoms, Lymphoms, Wilms-Tumors, primitiven neuroektodermalen Tumors und Retinoblastoms (2). Ebensonenig wurde in 4 Fällen des kleinzelligen Bronchialkarzinoms, 3 Fällen des Ewing-Sarkoms (1) und 6 Fällen endometrialer Stromaknötchen (4) eine Markierung erhalten (4).

References/ Références/ Literatur

1.

Chang TK, Li CY, Smithson WA. Immunocytochemical study of small round cell tumors in routinely processed specimens. Arch Pathol Lab Med 1989; 113:1343-8.

2.

Pollock L, Rampling D, Greenwald SE, Malone M. Desmin expression in rhabdomyosarcoma: influence of the desmin clone and immunohistochemical method. J Clin Pathol 1995; 48:535-8.

3.

Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. Esophageal stromal tumors. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. Am J Surg Pathol 2000; 24:211-22.

4.

Oliva E, Young RH, Clement PB, Bhan AK, Scully RE. Cellular benign mesenchymal tumors of the uterus. A comparative morphologic and immunohistochemical analysis of 33 highly cellular leiomyomas and six endometrial stromal nodules, two frequently confused tumors. Am J Surg Pathol 1995; 19:757-68.

5.

Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. Hum Pathol 1994; 25:753-7.

6.

Goebel HH, Warlo IAP. Progress in desmin-related myopathies (review). J Child Neurol 2000; 15:565-72.

7.

Van Muijen GNP, Ruiter DJ, Warnaar SO. Coexpression of intermediate filament polypeptides in human fetal and adult tissues. Lab Invest 1987; 57:359-69.

8.

Pitt MA, Roberts ISD, Agbamu DA, Eyden BP. The nature of atypical multinucleated stromal cells: a study of 37 cases from different sites. Histopathol 1993; 23:137-45.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole			
REF	Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	2 °C  8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser avant Verwendbar bis
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests	 Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung	